

令和 3 年 6 月 15 日現在

機関番号：32610

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06998

研究課題名(和文) 医原性免疫不全症関連リンパ増殖性疾患の分子遺伝学的特徴の解明

研究課題名(英文) Genetic analysis of iatrogenic immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorders

研究代表者

柴原 純二 (Shibahara, Junji)

杏林大学・医学部・教授

研究者番号：60334380

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：免疫抑制剤投与に起因する医原性免疫不全症関連リンパ増殖性疾患(IIA-LPD)(臓器移植後症例を除く)、特にびまん性大細胞型B細胞リンパ腫(DLBCL)型を対象に市販の遺伝子パネルを用いた網羅的遺伝子変異解析を行った。IIA-LPDの変異プロファイルは通常型DLBCLと同様に多様であり、IIA-LPDで認められた遺伝子変異の大半は通常型DLBCLにおいて既知の変異であった。IIA-LPDあるいはその中の予後良好群に特異的な変異は見出されなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年増加傾向にある医原性免疫不全症関連リンパ増殖性疾患(IIA-LPD)に関して、発生機序の解明や通常型悪性リンパ腫との異同を明らかにする上で、その分子遺伝学的特徴の詳細を知ることが必須となる。本研究で実施された網羅的遺伝子変異解析により、IIA-LPDで認められる遺伝子変異は多様であり、通常型悪性リンパ腫で認められる変異と共通点があることが確認されるなど、従来知見に乏しかったIIA-LPDの分子遺伝学的背景の一端が解明された。IIA-LPDの臨床的取扱いに直結する結果ではないが、その基盤となる知見の蓄積に寄与するものと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We conducted a comprehensive mutation analysis of iatrogenic immunodeficiency-associated lymphoproliferative disorders (IIA-LPDs), especially focusing on diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) type, using IonAmpliSeq Cancer Panel. Post-transplant LPDs were excluded from the analysis. Like conventional DLBCLs, IIA-LPDs exhibited a variety of mutation profiles, and most of the alterations identified in IIA-LPDs were previously reported in DLBCLs. We could not find any mutations specific to IIA-LPDs or its good prognostic subgroup.

研究分野：人体病理学

キーワード：医原性免疫不全症 リンパ増殖性疾患 悪性リンパ腫 遺伝子変異 EBV

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

メトトレキサート関連リンパ増殖性疾患に代表される医原性免疫不全症関連リンパ増殖性疾患は、近年増加傾向にある比較的頻度の高い疾患である。原因薬物の投与中止により病態が改善する症例がしばしば経験される一方で、化学療法等の積極的治療を要する症例もあり、患者予後も一様ではない。予後因子として組織形態や EBV 感染の有無等が知られるが、疾患層別化の指標は十分確立されていない。また、医原性免疫不全症関連リンパ増殖性疾患の分子遺伝学的特徴については十分な検討がなされておらず、形態学的には区別し難い通常型悪性リンパ腫との異同や予後良好・不良群における分子背景の相違も明らかとされていない。

2. 研究の目的

医原性免疫不全症関連リンパ増殖性疾患の連続症例を対象に、臨床病理学的検討及び網羅的遺伝子変異解析・遺伝子コピー数多型解析による分子遺伝学的検討を行い、その特徴を解明するとともに、疾患層別化の指標を明らかにすることを目的とした研究を行った。

3. 研究の方法

(1) 臨床病理学的検討

症例

過去 14 年間に杏林大学医学部付属病院で診断・治療されたリンパ増殖性疾患を対象とした。病理診断端末で “lymphoma” “lymphoproliferative” “lymph adenopathy” “lymphadenitis” “lymphoid hyperplasia” “follicular hyperplasia” をキーワードとして症例検索を行い、診断結果を参考にリンパ増殖性疾患を抽出した。抽出された全症例について、診療録（電子カルテ）を参照して医原性免疫不全症をきたす背景の有無について検討した。移植後リンパ増殖性疾患の症例は除く医原性免疫不全症関連リンパ増殖性疾患について、年齢・性別、既往歴、診断時の血液データ、画像診断結果、治療内容、転帰の情報を収集した。

病理学的検討

抽出された医原性免疫不全症関連リンパ増殖性疾患について、診断に使用された全組織標本を再検討し、必要に応じて免疫組織化学的染色（免疫染色）、*in situ* hybridization (ISH) を追加して、病型の再評価を行った。免疫染色、ISH は自動免疫染色装置（Ventana BenchMark GX (Roche)）を用いて行った。

(2) 分子遺伝学的検討

網羅的遺伝子解析

主にびまん性大細胞型 B 細胞リンパ腫（DLBCL）型の症例を対象に、ホルマリン固定パラフィン包埋（FFPE）ブロックから DNA を抽出し、Ion AmpliSeq Comprehensive Cancer Panel (Thermo Fisher Scientific) を用いて網羅的変異解析を行った。変異検出には GATK (Broad Institute) を使用した。通常型 DLBCL の網羅的変異解析について既報告 (Cell 171(2):481-494, 2017) を参照し、通常型 DLBCL で認められる遺伝子変異との異同について検討した。

遺伝子コピー数多型解析

同様に主に DLBCL 型の症例を対象に、FFPE ブロックから抽出した DNA を用い、HumanCoreExome-24 kit (Illumina) を用いて遺伝子コピー数多型解析を行った。

4. 研究成果

(1) 臨床病理学的特徴

疫学

リンパ増殖性疾患の連続症例約 1300 例から 85 例の医原性免疫不全症関連リンパ増殖性疾患が抽出された。研究対象期間の前半期（2007 年～2013 年）に 16 例、後半期（2014 年～2020 年）に 69 例が診断されており、近年の増加傾向が確認された。他施設からの持ち込み検体により診断された 8 症例を除く 77 例について詳細の検討を行った。

患者平均年齢は 73 歳（39～91 歳）、男性 21 例、女性 56 例であった。背景疾患として関節リウマチ（他疾患合併を含む）が 69 例、その他の疾患 8 例（再生不良性貧血 2 例、多発血管炎性肉芽腫症、混合性結合組織病、RS3PE 症候群、反応性関節炎、多発性硬化症、急速進行性糸球体腎炎症候群各 1 例）であった。71 例ではメトトレキサート、6 例ではその他の薬剤（プログラフ、ネオラル、イムラン、ミゾピリン）が主たる免疫抑制剤であった。

病型

主な病型は DLBCL 型、多形型（EBV 陽性皮膚粘膜潰瘍含む）、ホジキンリンパ腫型で、それぞれ 46 例、13 例、6 例認められた。そのほか、低悪性度 B 細胞性リンパ腫 3 例（MALT リンパ腫 2

例、マンツル細胞リンパ腫 1 例)、末梢性 T 細胞性リンパ腫 3 例(非特定型 2 例、血管免疫芽球形 T 細胞リンパ腫) 3 例、急速進行性 NK 細胞白血病 1 例、反応性リンパ節腫大 2 例、分類困難 3 例であった。

主要 3 型の特徴

主要な 3 病型である DLBCL 型、多形型、ホジキンリンパ腫型の 3 型についての臨床病理学的特徴の比較を表 1 に示す。

3 型の間で発症時年齢、性別、病変の局在等に有意な相違は認められなかったが、多形型では他 2 者に比較して EBV 陽性例が高頻度で、免疫抑制剤の中止により寛解が得られ、その後再発しない症例が有意に多い結果であった。

EBV 陽性・陰性症例の比較

EBV 陽性・陰性症例の臨床病理学的特徴の比較を表 2 に示す。

両群に発症時年齢や性別に有意差はなかった。EBV 陰性群ではメトトレキサート以外の薬剤が主たる免疫抑制剤として用いられている症例が有意に多かった。EBV 陽性群では EBV 陰性群に比し、多形型 35% vs 2%) とホジキンリンパ腫型(15% vs 2%) の頻度が高く、DLBCL 型(44% vs 72%) と主要 3 型以外の病型(6% vs 23%) の頻度が低かった。

EBV 陽性群では EBV 陰性群に比し、免疫抑制剤中止に対する反応性が良好で、免疫抑制剤中止後に寛解が得られ、その後再発しない症例(初期治療が免疫抑制剤中止のみであった 28 例中 24 例(86%)) が有意に高率であった。

DLBCL 型の EBV 陽性・陰性症例の比較

DLBCL 型における EBV 陽性・陰性症例の臨床病理学的特徴の比較を表 3 に示す。

両群で発症時年齢、性別等の臨床的背景や病変の局在(節内・節外) に有意な相違はなかったが、EBV 陽性群で病期の進んだ症例(Stage III/IV の症例) が有意に高率であった。組織学的には EBV 陽性型の大半が non-GC 型(93%) で、EBV 陰性群と比較して non-GC 型が有意に高率であった。

EBV 陰性群では初回治療から化学療法や放射線照射を必要とする症例が有意に多い結果であった。一方、EBV 陽性群は、免疫抑制剤中止に対する反応性が良好で、免疫抑制剤中止後に寛解が得られ、その後再発しない症例(初期治療が免疫抑制剤中止のみであった 12 例中 10 例(83%)) が有意に高率であった。EBV 陽性例では Stage III/IV 症例においても免疫抑制剤の中止のみで寛解を維持している症例が高率であった(EBV 陽性群では 11 例中 7 例(64%) EBV 陰性群では 17 例中 3 例(18%) p<0.05)。

	DLBCL型(D)	多形型(P)	ホジキンリンパ腫型(H)	p
	n=46	n=13	n=6	
平均年齢(範囲)	72 (39-87)	77 (47-91)	73 (59-79)	NS
男性/女性	14 / 32	1 / 12	1 / 5	NS
背景疾患				
関節リウマチ (他疾患合併を含む)	40 (87%)	13 (100%)	5 (83%)	NS
その他	6 (13%)	0 (0%)	1 (17%)	
免疫抑制剤				
メトトレキサート (他薬剤併用を含む)	42 (91%)	13 (100%)	5 (83%)	NS
その他	4 (9%)	0 (0%)	1 (17%)	
血清 LDH >245 U/L	32 (45) (71%)	7 (54%)	3 (50%)	NS
血清 sIL-2R 中央値 (範囲)	1464 (288-19600)	1490 (649-5730)	1535 (639-4140)	NS
局在				
節内	7 (15%)	5 (38%)	4 (67%)	NS
節外	17 (37%)	6 (46%)	0 (0%)	
節内+節外	22 (48%)	2 (15%)	2 (33%)	
病期				
Stage I/II	18 (39%)	-	1 (17%)	NS
Stage III/IV	28 (61%)	-	5 (83%)	
EBER-ISH 陽性	15 (33%)	12 (92%)	5 (83%)	<0.05 (D vs. P,H)
発症前免疫抑制剤中止	1 (2%)	0 (0%)	0 (0%)	NS
初期治療				
免疫抑制剤中止	32 (70%)	11 (85%)	6 (100%)	NS
免疫抑制剤中止 + 化学療法・放射線照射	10 (22%)	1 (8%)	0 (0%)	
その他	3 (7%)	1 (8%)	0 (0%)	
免疫抑制剤中止効果				
寛解・再発なし	17 (53%)	11 (100%)	3 (50%)	<0.05 (P vs. D,H)
寛解後再発	4 (13%)	0 (0%)	0 (0%)	
安定・進行	10 (31%)	0 (0%)	1 (17%)	
不明	1 (3%)	0 (0%)	0 (0%)	
転帰				
生存	35 (76%)	12 (92%)	5 (83%)	NS
リンパ増殖性疾患で死亡	4 (9%)	0 (0%)	0 (0%)	
他疾患で死亡	5 (11%)	1 (8%)	1 (17%)	
不明	2 (4%)	0 (0%)	0 (0%)	

	EBV陽性	EBV陰性	p
	n=34	n=43	
平均年齢(範囲)	72 (39-91)	73 (49-87)	NS
男性/女性	8 / 26	13 / 30	NS
背景疾患			
関節リウマチ (他疾患合併を含む)	33 (97%)	36 (84%)	NS
その他	1 (3%)	7 (16%)	
免疫抑制剤			
メトトレキサート (他薬剤併用を含む)	34 (100%)	36 (84%)	<0.05
その他	0 (0%)	7 (16%)	
血清 LDH >245 U/L	20 (32) (63%)	27 (63%)	NS
血清 sIL-2R 中央値 (範囲)	1670 (288-25100)	1223 (313-19600)	NS
病型			
DLBCL型	15 (44%)	31 (72%)	<0.05
多形型	12 (35%)	1 (2%)	
ホジキンリンパ腫型	5 (15%)	1 (2%)	
その他	2 (6%)	10 (23%)	
局在			
節内	9 (26%)	9 (21%)	NS
節外	12 (35%)	13 (30%)	
節内+節外	13 (38%)	21 (49%)	
病期 (リンパ腫症例)			
Stage I/II	6 (27%)	16 (43%)	NS
Stage III/IV	16 (73%)	21 (57%)	
発症前免疫抑制剤中止	1 (3%)	0 (0%)	NS
初期治療			
免疫抑制剤中止	28 (82%)	30 (70%)	NS
免疫抑制剤中止 + 化学療法・放射線照射	3 (9%)	9 (21%)	
その他	2 (6%)	4 (10%)	
免疫抑制剤中止効果			
寛解・再発なし	24 (86%)	11 (37%)	<0.05
寛解後再発	3 (11%)	4 (13%)	
安定・進行	1 (4%)	14 (47%)	
不明	0 (0%)	1 (3%)	
転帰			
生存	28 (82%)	33 (77%)	NS
リンパ増殖性疾患で死亡	3 (9%)	2 (5%)	
他疾患で死亡	1 (3%)	6 (14%)	
不明	2 (6%)	2 (5%)	

	EBV陽性	EBV陰性	p
	n=15	n=31	
平均年齢(範囲)	69 (39-91)	74 (51-87)	NS
男性/女性	4 / 11	10 / 31	NS
背景疾患			
関節リウマチ (他疾患合併を含む)	14 (93%)	26 (84%)	NS
その他	1 (7%)	5 (16%)	
免疫抑制剤			
メトトレキサート (他薬剤併用を含む)	15 (100%)	27 (87%)	NS
その他	0 (0%)	4 (13%)	
血清 LDH >245 U/L	10 (14) (71%)	21 (68%)	NS
血清 sIL-2R 中央値 (範囲)	1670 (288-12457)	1280 (313-19600)	NS
局在			
節内	0 (0%)	7 (23%)	NS
節外	7 (47%)	10 (32%)	
節内+節外	8 (53%)	14 (45%)	
病期			
Stage I/II	4 (27%)	14 (45%)	<0.05
Stage III/IV	11 (73%)	17 (45%)	
病型			
GC型	1 (7%)	11 (35%)	<0.05
non-GC型	14 (93%)	20 (65%)	
発症前免疫抑制剤中止	1 (7%)	0 (0%)	NS
初期治療			
免疫抑制剤中止	12 (80%)	20 (67%)	<0.05
免疫抑制剤中止 + 化学療法・放射線照射	1 (7%)	9 (30%)	
その他	1 (7%)	2 (7%)	
免疫抑制剤中止効果			
寛解・再発なし	10 (83%)	7 (35%)	<0.05
寛解後再発	1 (8%)	4 (13%)	
安定・進行	1 (8%)	8 (27%)	
不明	0 (0%)	1 (5%)	
転帰			
生存	12 (80%)	22 (73%)	NS
リンパ腫で死亡	3 (13%)	2 (7%)	
他疾患で死亡	0 (0%)	5 (17%)	
不明	1 (7%)	1 (3%)	

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 萬昂士、長濱清隆、大森嘉彦、高山信之、林玲匡、北濱圭一郎、柴原純二
2. 発表標題 医原性免疫不全症関連リンパ増殖性疾患の臨床病理学的・分子遺伝学的検討
3. 学会等名 第110回日本病理学会総会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	千葉 知宏 (Chiba Tomohiro) (60398617)	杏林大学・医学部・講師 (32610)	
研究分担者	船田 さやか (Funata Sayaka) (80756081)	杏林大学・医学部・助教 (32610)	
研究分担者	大森 嘉彦 (Omori Yoshihiko) (00712077)	杏林大学・医学部・助教 (32610)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------